

QUANTIFIZIERUNG DER INTIMAHYPERPLASIE NACH BALLONANGIOPLASTIE UND STENTIMPLANTATION IN DER KANINCHENAORTA MITTELS 3D MIKRO- COMPUTER TOMOGRAPHIE

矢島 淳ステファン
JUN-STEPHAN YAJIMA

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin des Fachbereichs
Medizin der Justus - Liebig-Universität Gießen

Quantifizierung der Intimahyperplasie nach Ballonangioplastie und
Stentimplantation in der Kaninchenaorta mittels
3D mikro-Computer Tomographie

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus - Liebig - Universität Gießen

Vorgelegt von Jun-Stephan Yajima
aus Tokyo
Gießen, 2007

Aus der Abteilung für Diagnostische Radiologie

Direktor: Prof. Dr. med. W. S. Rau

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

Gutachter: Herr PD Dr. med. A. C. Langheinrich

Gutachterin: Frau PD Dr. med. Ch. Neuhof

Tag der Disputation: 11. September 2007

Literaturverzeichnis

Literaturverzeichnis	3
0.1 Alphabetische Reihenfolge der verwendeten Abkürzungen	4
1. Einleitung	5
1.1 Pathogenese der Restenose nach Ballonangioplastie und Stentimplantation.....	5
1.2 Bildgebende Verfahren zur Gefäßdarstellung	6
1.3 Anwendung der mikro-CT zur dreidimensionalen Quantifizierung von Gefäßparametern	8
1.4 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	9
2. Material und Methoden	9
2.1 Tiere und Tierhaltung	9
2.2 Ballonangioplastie und Stentimplantation	9
2.3 Tierpräparation und Stentexplantation	10
2.4 mikro-Computer Tomographie.....	11
2.4.1 Grundlagen	11
2.4.2 Bilderzeugung und Datenakquisition	13
2.5 Quantifizierung der Neointima.....	15
2.6 Histologische Aufarbeitung.....	16
2.7 Statistik.....	16
3. Ergebnisse	17
3.1 Stentimplantation und konventionelle Angiographie	17
3.2 Stentvisualisierung in der mikro-Computer Tomographie	19
3.3 Quantifizierung der Neointima.....	20
4. Diskussion	23
5. Zusammenfassung und Ausblick	27
7. Lebenslauf	36
9. Abstract	38
10. Danksagung	39

0.1 Alphabetische Reihenfolge der verwendeten Abkürzungen

bFGF:	basic fibroblast growth factor
CCD:	Charge Couple Device
DNA:	Desoxyribonucleic acid
DSA:	Digitale Subtraktionsangiographie
IGF-1:	Insuline like growth factor-1
IL-1:	Interleukin-1
IVUS:	Intravaskulärer Ultraschall
mikro-CT:	mikro-Computer Tomographie
MRT:	Magnetresonanztomographie
MSCT:	Mehrzeilen Computertomographie
NO:	Stickstoffmonoxid
PDGF:	Platelet derived growth factor
PTA:	Percutane transluminale Angioplastie
SPACE-Studie:	Stentgestützte perkutane Angioplastie der Carotis vs. Endarterektomie
TGF-beta :	Tissue growth factor- β
TNF- α :	Tumornekrosefaktor- α

1. Einleitung

1.1 Pathogenese der Restenose nach Ballonangioplastie und Stentimplantation

Das Gefäßendothel spielt durch seine Fähigkeit, in der physiologischen Situation das lokale Gefäßmilieu zu kontrollieren eine Schlüsselrolle bei der vaskulären Homöostase. Es ist in der Lage, den Tonus des Gefäßes mittels konstriktorischer (Endothelin) und dilatatorischer Faktoren (NO, Prostazyklin und Heparin) zu modulieren (Meredith *et al.* (1993); Ross (1993)). Das Endothel produziert wachstumsfördernde und –inhibierende Mediatoren (PDGF, bFGF, TGF-beta) und regelt sowohl die Hämostase durch pro- und antikoagulatorische Substanzen, als auch inflammatorische Prozesse durch Expression von chemoattraktiven Molekülen und Adhäsionsproteinen auf der Zelloberfläche (Ross (1993); Dzau, Gibbons (1991)). Die Ballonangioplastie führt zu einer Zerstörung der Integrität der Endothelzellschicht, soweit diese im atherosklerotischen Plaque noch vorhanden ist. Es kommt zu einem Verlust der endothelialen Kontrollfunktion und zu einer pathologischen Aktivierung der Endothelzellen, die über Sekretion von Wachstumsfaktoren die Proliferation glatter Muskelzellen stimulieren, statt deren Wachstum zu inhibieren. Durch Migration glatter Gefäßmuskelzellen in die Intima kann es zusätzlich zu einer Behinderung der protektiven Reendothelialisierung und zu weiterer Proliferation der glatten Muskelzellen kommen (von Birgelen *et al.* (1997); Nissen, Yock (2001); Costa *et al.* (2000)).

Der somit entscheidende Faktor bei der Entstehung einer chronischen Rezidivstenose nach Ballonangioplastie ist die Migration und Proliferation glatter Muskelzellen als Antwort auf eine direkte Verletzung der Gefäßwand (Casscells (1991); Rosenberg (1993)). Im Zeitintervall zwischen 24 und 72 Stunden nach Ballonangioplastie kommt es im Tiermodell zur DNA-Synthese in einer Subpopulation vorher phänotypisch kontraktiler glatter Muskelzellen der Media (Clowes, Reidy (1991); Schwartz *et al.* (1990)). Diese wandern durch die Membrana elastica interna, proliferieren und synthetisieren eine kollagenreiche extrazelluläre Matrix. Als Signal der Migration und Proliferation werden sowohl die mechanische Alteration, als auch vasoaktive Hormone (Katecholamine oder Angiotensin II) und Wachstumsfaktoren und Zytokine wie bFGF (basic fibroblast growth factor), IL-1 (Interleukin-1), TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) und PDGF (Platelet derived growth factor) angesehen (von Birgelen *et al.* (1997); Nissen, Yock (2001); Costa *et al.* (2000)). PDGF wird in den meisten am Plaqueswachstum beteiligten Zellen synthetisiert (Thrombozyten, Makrophagen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen). Desweiteren konnte PDGF vermehrt in atherosklerotischen Gefäßen und in der Neointima nach Ballonangioplastie vorgefunden

werden (Barrett, Benditt (1988)).

Die direkte Verletzung der Endothelzellen und der glatten Gefäßmuskelzellen durch den Ballon stellt, wie bereits beschrieben, einen potenten Stimulus für die Sekretion von Wachstumsfaktoren (PDGF, TGF- β , IGF-1), das Freiwerden von bFGF und die Aktivierung des lokalen Angiotensin-Systems mit konsekutiver Wachstumssteigerung glatter Muskelzellen und Synthese extrazellulärer Matrix dar. Protektiv wirkt sich durch den verbesserten Fluß nach Angioplastie und Stentimplantation die erhöhte Scherkraft aus. Sie führt zu einem das Lumen vergrößernden Remodelingprozeß, der in den pathophysiologischen Zusammenhängen noch nicht vollständig verstanden ist. Für diesen hämodynamischen Stimulus dienen Endothelzellen als Sensoren, wodurch die Wichtigkeit ihrer Regenerationsfähigkeit unterstrichen wird.

Trotz der Anwendung neuerer Techniken, wie der direktionalen Atherektomie und Rotablation, liegt die Restenoserate immer noch bei 30-50 %, welche bisher auch durch eine zusätzliche pharmakologische Therapie nicht wesentlich zu verbessern ist (Cotton (1994)). In diesem Missverhältnis spiegelt sich die Schwierigkeit wieder, aufgrund der Komplexität des pathophysiologischen Prozesses geeignete Angriffspunkte für eine medikamentöse Therapie zu finden.

Insgesamt ist der Langzeiterfolg nach Angioplastie als Nettobilanz zwischen lumenerweiterenden und protektiven Faktoren (Regenerationskapazität des Endothels) gegenüber reparativen, das Lumen einengenden Prozessen zu sehen.

1.2 Bildgebende Verfahren zur Gefäßdarstellung

In den letzten Jahren sind konkurrierende Methoden auf dem Gebiet der klinischen und präklinischen Forschung implementiert worden die sich mit der Darstellung und Quantifizierung von Gefäßparametern beschäftigten.

Zwischen der mikroskopischen Histomorphometrie auf der einen und der klinischen Angiographie auf der anderen Seite stehen sowohl dem Kliniker als auch dem Grundlagenforscher weitere Verfahren, wie z.B. die Magnetresonanztomographie (MRT) (Buecker *et al.* (2002); Kuehne *et al.* (2002); Meyer *et al.* (2000); Spuentrup *et al.* (2003)), der intravaskuläre Ultraschall (IVUS) (von Birgelen *et al.* (1997); Nissen, Yock (2001); Costa *et al.* (2000)) oder die Mehrzeilen Computer Tomographie (MSCT) (Achenbach *et al.* (2003a); Ropers *et al.* (2003); Achenbach *et al.* (2003b); Achenbach (2003)) zur Analyse von Gefäßparametern zur Verfügung.

Trotz der technischen Weiterentwicklung erreicht die räumliche Auflösung klinisch einsetzbarer Geräte kaum eine Größenordnung unter 500 μm . Prä- und postkapilläre Blutgefäße oder feine Weichteildetails (wie z.B. Alveolarwände) lassen sich nicht darstellen. Unter experimentellen Bedingungen kann bei Präparataufnahmen zwar eine höhere Auflösung erzielt werden, wenn folienloser Materialprüffilm verwendet wird oder wenn die Aufnahmen in Vergrößerungstechnik mit Feinstfokusröhren angefertigt werden, doch handelt es sich dabei immer um Projektionsradiographien, die keine dreidimensionale Analyse zulassen.

Daher ist bislang die histologische Untersuchung weiterhin der Goldstandard, um Strukturen in einer Größenordnung unter 200 μm zu visualisieren und quantitativ auszuwerten.

Mit der Angiographie (Luminographie) können nur bedingt Aussagen zur Gefäßmorphologie getroffen werden, und es lassen sich lediglich makromorphologische Veränderungen detektieren. Neue, ergänzende radiologischen Methoden, wie die Angio-MRT und Mehrzeilen CT-Technologie, befinden sich bereits im klinischen Einsatz. Trotz der beeindruckenden Ergebnisse in der Gefäßdarstellung lassen beide Methoden mit einer Ortsauflösung im Millimeter-Bereich noch keine befriedigende Beurteilung der prä- und postkapillären Gefäße und der Gefäßwand zu.

Obwohl die quantitative Histomorphometrie oder stereologische Verfahren nach wie vor in der quantitativen Analytik von vaskulären Parametern eingesetzt werden, haben sie gewisse Nachteile. Nur wenige Mikrometer eines Gefäßes werden in diesen Verfahren zur Quantifizierung der Gefäßparameter (Gefäßwanddicke, Plaquegröße, Verkalkungen und Stenosegrad) herangezogen (Grewe *et al.* (2000); Galloni *et al.* (2003)). Die Selektion des zu untersuchenden Segmentes ist mehr oder weniger zufällig, so dass Heterogenitäten stenosierender Läsionen kaum zuverlässig erfasst werden können. Durch Interpolation wird auf die Dimension des gesamten Gefäßes oder eines bestimmten Gefäßsegmentes rückgeschlossen. Neben der zeit- und personalintensiven Probenaufbereitung bestehen die Nachteile einer zweidimensionalen Gefäß- und Weichteildarstellung.

Die Erstellung von histologischen Schnittpräparaten nach Inkorporation von Stents in die Gefäßwand erfordert eine zusätzliche, spezielle Aufarbeitung der Proben. Dazu müssen die Stentstreben vor Anfertigung der Schnittpräparate aus dem Gewebe entfernt werden ohne dabei die Integrität der Gefäßwand zu zerstören.

Als neue Methode und potentielle Alternative zur quantitativen Histologie hat sich im letzten Jahrzehnt die Technologie der mikro-Computer Tomographie (mikro-CT) in der ex-vivo Forschung etabliert. Zahlreiche Untersuchungen wurden in den letzten Jahren auf dem Gebiet der vaskulären Grundlagenforschung vorgenommen und es haben sich beeindruckende

Ergebnisse in der Darstellung und Quantifizierung pathologischer Gefäßalterationen gezeigt (Kantor *et al.* (2000); Bentley *et al.* (2002); Wilson *et al.* (2002); Rodriguez-Porcel *et al.* (2000); Ortiz *et al.* (2000); Kwon *et al.* (1998a); Kwon *et al.* (1998b)).

1.3 Anwendung der mikro-CT zur dreidimensionalen Quantifizierung von Gefäßparametern

Ein erster Ansatz, die Gefäßarchitektur in dreidimensionalen mikro-CT Datensätzen zu quantifizieren, wurde von Jorgensen und Mitarbeitern unternommen (Jorgensen *et al.* (1998)). In dieser methodischen Arbeit konnte gezeigt werden, dass durch die intravasale Applikation von Kontrastmittel eine Darstellung von Gefäßen an isolierten Organen möglich ist. Bei einer Voxelgröße von 5-25 µm konnte eine dreidimensionale Darstellung der Vasa vasorum von Koronargefäßen erzielt werden. Weiterführende Arbeiten von Wan und Mitarbeitern (Wan *et al.* (2002)) haben erstmals die dreidimensionale Gefäßarchitektur von perfundierten Rattenkoronarien dargestellt.

Ausgehend von diesen Erkenntnissen konnte die Arbeitsgruppe um Lerman und Ritman (Karau *et al.* (2001); Lerman, Ritman (1999); Ritman *et al.* (1998); Ritman (2002)) die mikro-CT-Technologie in der systematischen Struktur-Funktionsbeziehung von isolierten, fixierten und perfundierten Organen einsetzen. Durch die mikro-CT konnte in dieser Arbeitsgruppe ein therapeutischer Effekt von Simvastatin auf die Gefäßdichte der Vasa privata von Koronargefäßen aufgezeigt werden.

Durch die intravasale Applikation von Kontrastmittel konnten methodische Ansätzen der mikro-CT zur Evaluierung von Gefäßvolumen, Oberfläche und Dichte eingeführt werden. Zur Darstellung und Quantifizierung der Vasa vasorum von Koronargefäßen (Kantor *et al.* (2002); Gössl *et al.* (2003a); Gössl *et al.* (2003b); Kantor *et al.* (1999); Kwon *et al.* (1998a); Lerman and Ritman (1999a)) der Nierenarterien (Fortepiani *et al.* (2003)), der Leberarterien (Wan *et al.* (2000)), der Pulmonalarterien (Jorgensen *et al.* (1998)) sowie der Corpora cavernosa (Simopoulos *et al.* (2001)) der Ratte wurde ein Silikon und Chromat enthaltendes Kontrastmittel (Microfil MV-122, Flow Tech, Carver, MA, USA) verwendet. Durch die Akquisition eines dreidimensionalen, isotropen und lückenlosen Datensatzes konnte hier eine vollständige Quantifizierung von Gefäßvolumina, Gefäßdichte- und Oberfläche erarbeitet werden.

1.4 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die mikro-CT als neue Methode zur dreidimensionalen und lückenlosen Quantifizierung der Intimahyperplasie nach Endotheldenudation, Ballonangioplastie und Stentimplantation im Tiermodell zu evaluieren. Als Tiermodell wählten wir aufgrund der traumatisch induzierbaren Intimahyperplasie das Kaninchen. Bei diesen Tieren findet sich typischerweise unter cholesterinreicher Diät sechs Wochen nach PTA und Stentimplantation in der Aorta abdominalis eine intimale Hyperplasie, was dem ersten morphologisch fassbaren Stadium der Restenose entspricht.

2. Material und Methoden

2.1 Tiere und Tierhaltung

Sieben weibliche New Zealand White Rabbits (Charles Rivers Wiga, Sulzfeld, Deutschland) mit einem Gewicht von 3,3-4,5 kg wurden über einen Zeitraum von 6 Wochen bei Raumtemperatur und einem natürlichem Tag-Nacht Rhythmus gehalten.

2.2 Ballonangioplastie und Stentimplantation

Nach systemischer Narkose mit Rompun[®] (Xylazinhydrochlorid) und Ketanest[®] (Ketamin) wurde die rechte Arteria femoralis communis freipräpariert. Mittels grüner Venenverweilkanüle (Braunüle[®], 18G, B|Braun, Deutschland) wurde diese Arterie punktiert und ein Führungsdraht in der abdominalen Aorta platziert. Nach Einlage einer 5F Schleuse (Radifocus[®] Introducer, USA) erfolgte zunächst über einen inflatierten Ballonkatheter (Bijou 5,0-20mm Boston Scientific) die Denudierung des Endothels in der infrarenalen Bauchaorta. Dazu wurde der inflatierte Ballonkatheter direkt unterhalb der Nierenarterien beginnend bis zur Aortenbifurkation gezogen. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Anschließend wurde unter anigographischer Kontrolle ein 2 cm langer und 5 mm breiter Stent (Palmaz, Johnson und Johnson, USA) in der infrarenalen Bauchaorta platziert (Abb. 1).

Zum Ausschluss einer akuten Thrombose, einer Dissektion oder einer Gefäßruptur nach Endotheldenudation, Angioplastie und Stentimplantation wurde unmittelbar eine angiographische Kontrolle durchgeführt.

Nach Entfernung der 5F Schleuse aus der Arteria femoralis communis wurde das Gefäß ligiert und die Wunde wurde unter sterilen Bedingungen primär mit einer Hautnaht (Prolene, 3.0)

verschlossen.

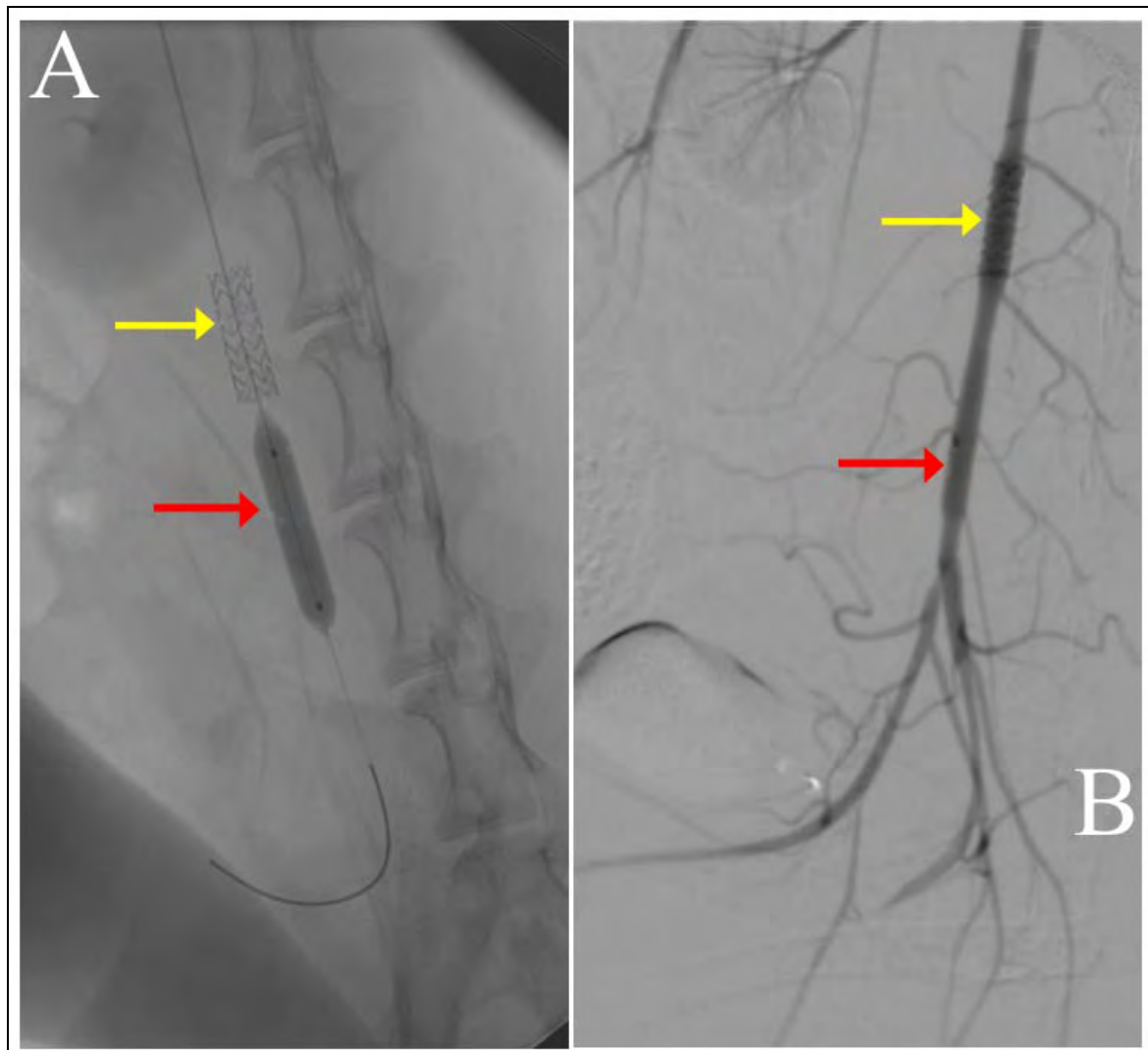


Abbildung 1 A, B: Stentimplantation (A, B, gelber Pfeil) und Angioplastie der infrarenalen Aorta abdominalis (A, B, roter Pfeil). In der angiographischen Kontrolle zeigt sich die bereits initial aufgeweitete Aorta im Bereich des Stents und der zusätzlichen infrarenalen Angioplastie. Es lässt sich in der Abschlußkontrolle keine Dissektion, Thrombose oder Gefäßruptur erkennen.

2.3 Tierpräparation und Stentexplantation

Sechs Wochen unter atherogener Diät wurden die Tiere durch intravenöse Überdosis von Ketanest[®] und Rompun[®] getötet. Nach Eröffnung des Abdomens und des Thorax wurde die thorakale Aorta antegrad punktiert und mit einer physiologischen Kochsalzlösung und Heparin gespült bis der venöse Abstrom makroskopisch blutleer erschien. Anschließend wurde eine Kontrastmittelsuspension bestehend aus Bariumsulfat (Micropaque, Guerbet,

Sulzbach, Deutschland) und Gelatine (Blatt Gelatine, RUF Lebensmittelwerk KG, Quakenbrück, Deutschland) über die thorakale Aorta infundiert. Durch Beimischung von Gelatine wird erreicht, dass die bei 50 bis 60°C flüssige Suspension bei Raumtemperatur erstarrt.

Nach Verlust der Körpertemperatur und der damit verbundenen Aushärtung der intravasalen verbliebenen Kontrastmittelsuspension wurde die Aorta abdominalis entnommen und in gepuffertem Formalin bis zur weiteren Aufarbeitung gelagert.

2.4 mikro-Computer Tomographie

2.4.1 Grundlagen

Im Scanner ist ein Probenschlitten zwischen einer Mikrofokusröntgenröhre und einem CCD- (Charge Couple Device) Detektor auf einer drehbaren Achse befestigt. Dieser führt eine Rotationsbewegung in frei definierbaren Winkelschritten durch und kann entlang der Längsachse zwischen Röntgenröhre und CCD-Detektor bewegt werden. Das heißt, nicht die Gantry dreht sich um das Objekt, sondern das Objekt dreht sich in einem feststehenden Strahlengang. Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung der mikro-CT-Technologie.

Ein variabler Vergrößerungsmaßstab wird durch die Verschiebung des Präparates entlang der Längsachse erzielt. Die maximale Objektgröße beträgt bei dem Tomographen 2,5 x 2,5 cm, bei höheren Objektgrößen können in der Bildberechnung Artefakte entstehen, da das Projektionsbild des Objektes nicht breiter als der CCD-Detektor sein darf.

Die theoretische Möglichkeit, ein sehr kleines Objekt dicht an die Strahlenquelle heranzuführen, um so einen möglichst großen Vergrößerungsfaktor zu erzielen, ist technisch durch die Brennfleckgröße begrenzt. Auch eine Mikrofokusröhre hat einen Fokus von mehreren μm Größe, so dass das Projektionsbild des Objektes auf dem CCD-Detektor bei zunehmender Annäherung des Objektes an die Strahlenquelle entsprechend unscharf wird.

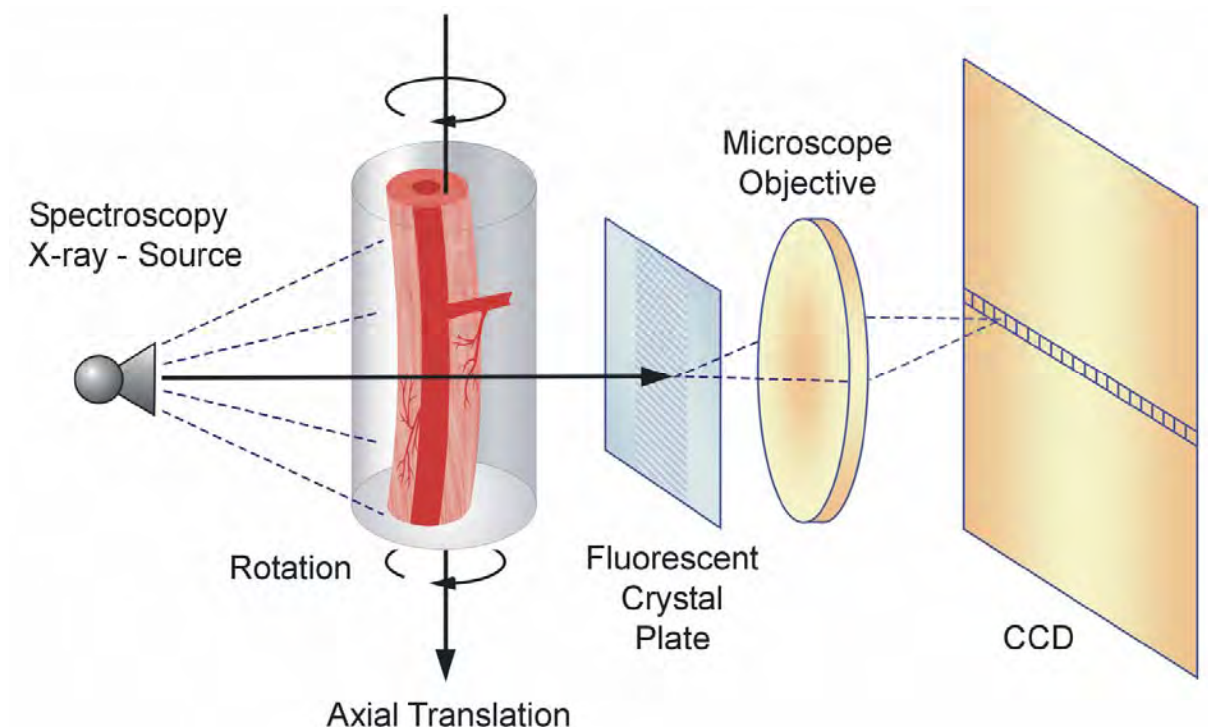


Abbildung 2: Schematische Darstellung der mikro-CT- Fächerstrahlengeometrie für Fein-oder Mikrofokusröhren mit Zeilendedektor (Abb. Erik L. Ritman, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, MN, USA).

Der uns zur Verfügung stehende, hochauflösende Computertomograph (SkyScan1072_80kV, Aartselaar, Belgien) arbeitet mit Fächerstrahlgeometrie. Als Strahlenquelle dient eine Mikrofokusröntgenröhre (Fokusgröße $8\text{ }\mu\text{m}$), die bei Beschleunigungsspannungen bis 80 kV bei einer Leistung von 8 W betrieben werden kann. Als Detektor dient eine ca. $25\text{ }\mu\text{m}$ dicke Szintillatorschicht, die auf dem Kamerafenster einer gekühlten CCD-Kamera mit 1024×1024 Pixeln aufliegt. Die maximale geometrische Vergrößerung, also das Verhältnis der Abstände von Strahlenquelle zu Detektor und von Strahlenquelle zu Objekt beträgt ca. 80. Der Scanvorgang ist abhängig von der Objektgröße und der geometrischen Auflösung und dauert bei einem 1 cm langen zylindrischen Gewebestück etwa 45 min . Die Zeit, die für die dreidimensionale Bildrekonstruktion unter Verwendung des Feldkamp-Algorithmus (von Birgelen *et al.* (1997); Nissen, Yock (2001); Costa *et al.* (2000)) benötigt wird, beträgt bei Verwendung eines dualen Intel®Xeon™ Prozessors ($2 \times 1800\text{ MHz}$, 1024 MB RAM) ca. 6 Stunden. Unsere Messungen erfolgten bei einer Röhrenspannung von 60 kV , einem Strom von $80\text{ }\mu\text{A}$, einer Vorfilterung des Röhrenspektrums mit $3,0\text{ mm}$ Aluminium und einer Belichtungszeit von $2,4\text{ s}$ pro Rotationsschritt. In Rotationswinkelschritten von $0,45^\circ$ werden Absorptionsbilder bei einer Akquisitionsmatrix von 1024×1024 Pixel erzeugt die mit Hilfe der Rückprojektionstechnik in isotrope, axiale Schnittbilder umgewandelt werden.

2.4.2 Bilderzeugung und Datenakquisition

Die durch die Mikrofokusröhre erzeugten Röntgenquanten werden fächerförmig fokussiert, durch das Objekt geschwächt und der CCD-Detektor misst die ankommende Röntgenstrahlung die in ein digitales Signal umgewandelt wird. Es werden so in vielen verschiedenen Projektionsrichtungen Absorptionsbilder erzeugt. Diese können dann mit Hilfe der Rückprojektionstechnik in axiale Schnittbilder umgewandelt werden, es entstehen so Bilder mit einer Größe von ca. einem Megabyte aus isotropen Voxeln bei einer Akquisitionsmatrix von 1024x1024 Pixel.

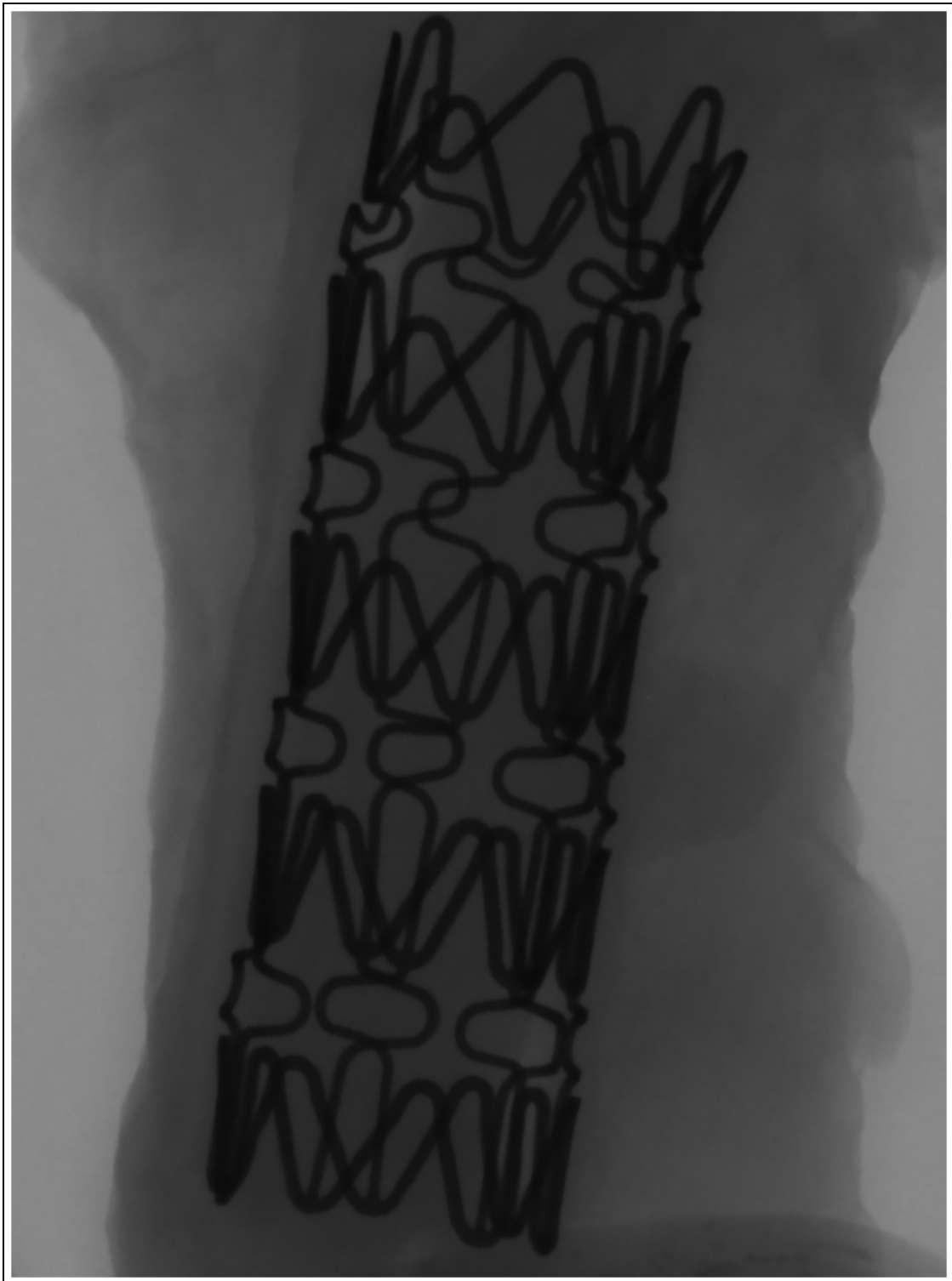


Abbildung 3: Übersicht eines 5mm breiten und 2 cm langen Stents in der infrarenalen Bauchaorta im Kaninchen in der micro-CT. Die Gefäßwand und das Lumen sind in der Übersicht von den Stentstreben ohne intraarterielle Kontrastierung kaum zu differenzieren.

2.5 Quantifizierung der Neointima

An jedem Stent wurden an jeweils 100 transversalen Schnittbildern folgende Gefäßwandparameter bestimmt:

1. Fläche der Gefäßwand
2. Fläche des Lumens
3. Fläche der Neointima

Dazu wurden die Transversaldurchmesser der äußeren Gefäßabgrenzung, der Stentstreben und des Lumens in jeweils 2 Ebenen gemessen. Nach Bestimmung des Histogramms durch das Software Programm *Analyze 6.0* (Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, MN, USA) lassen sich durch die Differenz der Abstände zwischen den Stentstreben und des Lumens die Neointimafläche berechnen. Eine schematische Darstellung des Meßprotokolls ist in Abbildung 4 gezeigt.

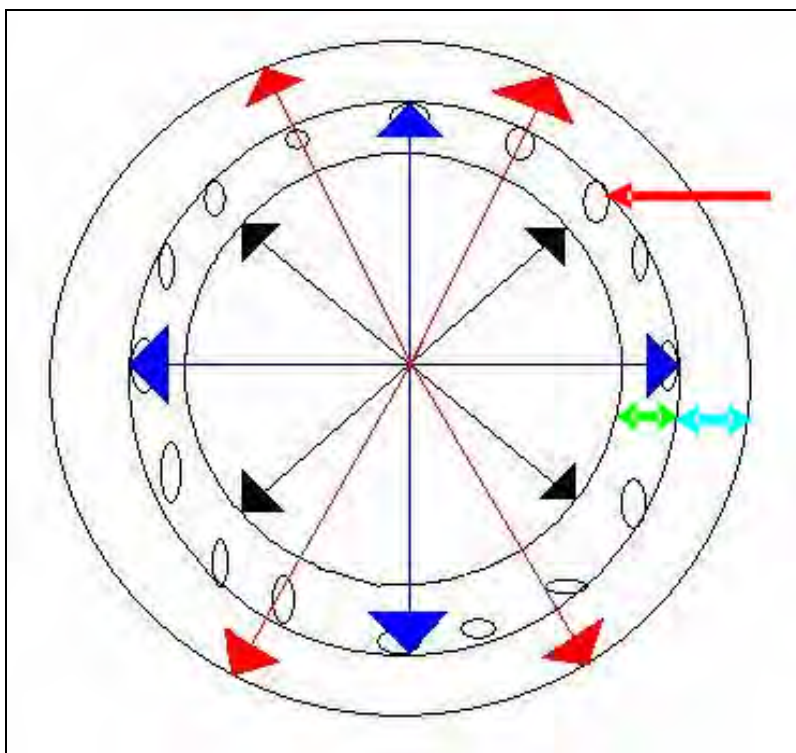


Abbildung 4: Graphische Darstellung der morphometrischen Messanalyse von Gefäßwandparametern. Zur Quantifizierung der Gefäßwandveränderungen wurden zunächst die transversalen Durchmesser des Lumens (schwarze Pfeile), der Stentstreben (blaue Pfeile) und der äußeren Gefäßabgrenzung (rote Pfeile) in jeweils 2 Ebenen durchgeführt. Dadurch konnten die Flächen der Neointima (grüner Pfeil) und der Tunica Media (hellblauer Pfeil) berechnet werden.

2.6 Histologische Aufarbeitung

Die in Formalin fixierten Präparate wurden zunächst makroskopisch und radiographisch dokumentiert. Die histologische Aufarbeitung der Stentpräparate wurde am Institut für Pathologie an der Berufsgenossenschaftlichen Klinik Bergmannsheil, Bochum durch PD Dr. P. Grewe und Prof. Dr. K. Müller durchgeführt.

Ein speziell entwickelter Zuschnitt der Metallstents erfolgte mittels einer wassergekühlten Diamantsäge.

Mit dem Rotations-Hartschnittmikrotom (Accutom-5, Fa. Struers, Düsseldorf, Deutschland) konnten planparallele Querschnittserien der Aorta abdominalis nach Stentimplantation erstellt werden. Aufgrund des schnittbedingten Materialverlustes sind Serienschnitte mit einem Abstand von über 1,5 mm möglich.

Die so durchgeführte Aufarbeitung der einzelnen Proben erbrachte 10 Gefäßquerschnittpräparate pro Stent. Um die Schnittpräparate lichtmikroskopisch untersuchen zu können, wurde jeder Schnitt mit der Präzisionsschleifeinheit Phoenix 4000 (Fa. Jean Wirtz, Deutschland) unter kontinuierlicher Wasserkühlung auf eine Dicke von 15-20 µm abgeschliffen und poliert.

Die Färbung der Hartschnitt-Dünnschliff-Präparate erfolgte mit der Modifikation der Mallory-Heidenhainschen Methode (Jorgensen *et al.* (1998)).

Die histologischen Schnitte wurden anschließend digitalisiert und quantitativ histomorphometrisch ausgewertet. Die digitale quantitative Histomorphometrie wurde durch das ANALYZE 6.0 Software Programm durchgeführt. Dazu wurden die Transversaldurchmesser der äußeren Gefäßabgrenzung, der Stentstreben und des Lumens in jeweils 2 Ebenen durchgeführt. Die Berechnung der Fläche für die Tunica Media, die Neointima und des Lumens erfolgte analog zur Auswertung in der mikro-CT.

2.7 Statistik

Alle Angaben sind Mittelwerte und SEM. Die statistische Auswertung erfolgte durch das Software-Programm JMP 5.1. Der statistische Vergleich zwischen der quantitativen Histomorphometrie und der mikro-CT wurde durch Pearsons Korrelationskoeffizient bestimmt.

3. Ergebnisse

3.1 Stentimplantation und konventionelle Angiographie

Die Angiographie (Luminographie) zeigt 6 Wochen nach PTA und Stentimplantation keine makromorphologische Veränderung der Gefäßwand nach Ballonangioplastie und Stentimplantation. Das Stentlumen war gegenüber der normalen Gefäßwand aufgeweitet (1,1-1,2:1). In der röntgenographischen Dokumentation wurde keine Dissektion, In-Stent-Thrombose oder Stenose detektiert (Abbildung 5A-C).



Abbildung 5 A-C: Intraarterielle Angiographie nach Stentimplantation und Ballonangioplastie in der Kaninchenaorta. Die Stentstreben lassen sich schemenhaft abgrenzen (A, schwarzer Pfeil). Sechs Wochen nach Inkorporation des Stents ist in der angiographischen Kontrolle das Stentlumen gegenüber der nicht-angioplastierten und gestenteten Gefäßwand aufgeweitet (1,1-1,2:1) (B). Mit der konventionellen Angiographie (Luminographie) lässt sich keine In-Stent-Stenose oder eine intimale Hyperplasie detektieren (C).

3.2 Stentvisualisierung in der mikro-Computer Tomographie

In der mikro-CT lassen sich die Stentstreben (Abbildung 6 A, B) in ihrer dreidimensionalen Ausdehnung lückenlos darstellen. Nach intraarterieller Kontrastmittelperfusion lassen sich die Stentstreben vom Gefäßlumen differenzieren. Dabei wurde in keinem der untersuchten Proben ein Strebenbruch beobachtet. Alle Proben zeigten eine korrekte Positionierung in der Gefäßwand. Bereits in der Oberflächenrekonstruktion zeigt sich eine Dehiszenz zwischen den Stentstreben und des Gefäßlumens. Die aus der Aorta abdominalis abgehenden Gefäße sind im proximalen Bereich miterfasst (Abbildung 6, roter Pfeil) und mit Kontrastmittel perfundiert. Hier zeigte sich eine partielle Bedeckung der Arteria mesenterica inferior von den inkooperierten Stentstreben. Durch die Applikation von Kontrastmittel und der 3D Darstellung in der mikro-CT konnte jedoch ein Verschluss der großen unpaaren Baucharterienabgänge ausgeschlossen werden.

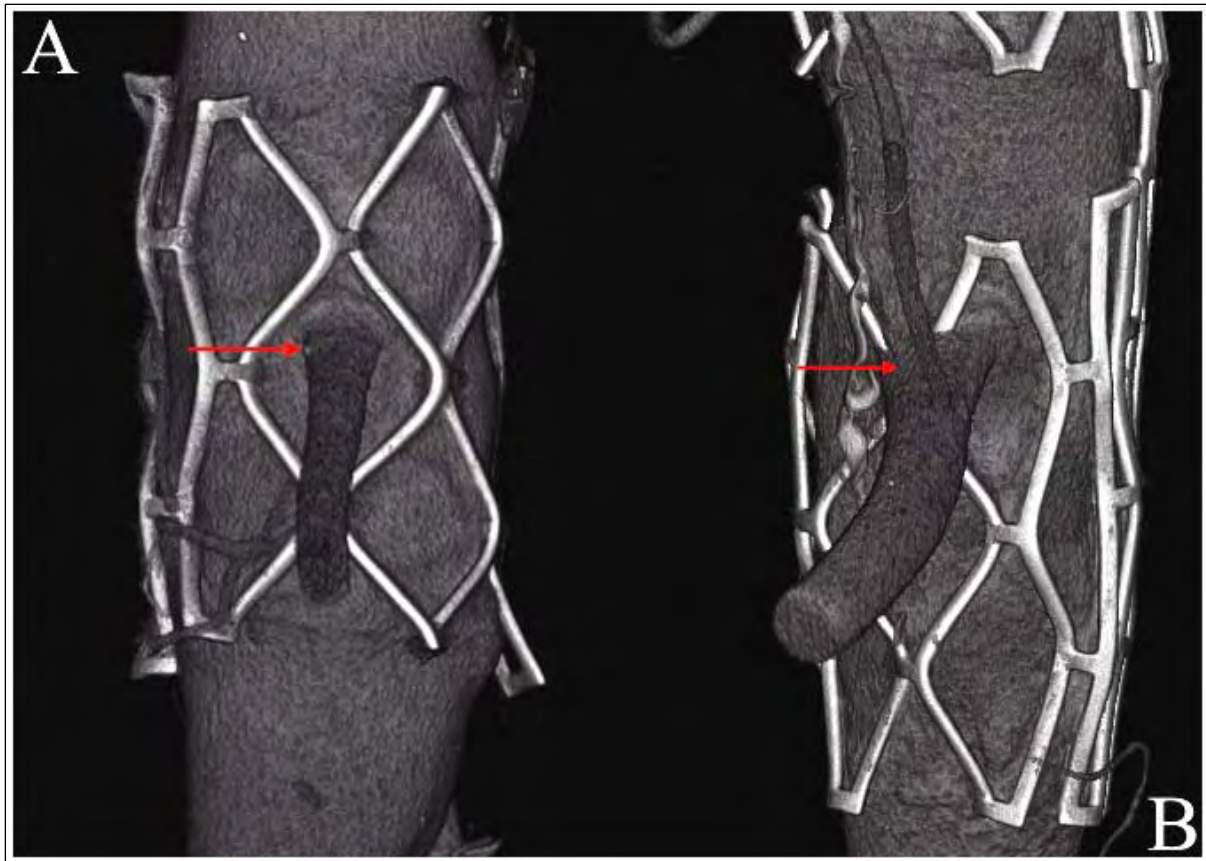


Abbildung 6 A, B: Oberflächenrekonstruktion eines 2 cm langen Palmaz Stent. Die Stentstreben lassen sich vom Gefäßlumen gut differenzieren. Miterfasst zeigt sich die proximale A. mesenterica inferior (A, roter Pfeil), der Abgang ist partiell durch die Stentstreben verlegt (B, roter Pfeil), aber frei perfunziert.

3.3 Quantifizierung der Neointima

Im quantitativen Vergleich zeigten sich hochsignifikante Korrelationen zwischen der konventionellen Histomorphometrie und der mikro-CT aller untersuchten Gefäßwandparameter. Der Stent zeigte in der mikro-CT eine durchschnittliche Fläche von $19,32 \pm 0,68 \text{ mm}^2$ gegenüber $19,87 \pm 0,56 \text{ mm}^2$ in der konventionellen Histomorphometrie ($r = 0,92$, s. Diagramm 1).

Die Fläche des mit Kontrastmittel gefüllten Lumens zeigt eine signifikante Korrelation zwischen der mikro-CT ($15,41 \pm 0,71 \text{ mm}^2$) und der Histomorphometrie ($15,7 \pm 0,67 \text{ mm}^2$) wie in Diagramm 1 dargestellt ($r = 0,84$). Signifikante Korrelationen wurden ebenfalls für die Fläche der Tunica Media ($6,32 \pm 1,28 \text{ mm}^2$ vs. $6,33 \pm 1,02 \text{ mm}^2$, $r = 0,96$) und für die Fläche der Neointima ($3,9 \pm 0,5 \text{ mm}^2$ vs. $4,1 \pm 0,4 \text{ mm}^2$, $r = 0,90$) detektiert. Die gemessenen Gefäßwandparameter der einzelnen Stents sind in Tabelle 1 zusammen gefasst.

	μ CT	Histologie	μ CT	Histologie	μ CT	Histologie	μ CT	Histologie
mm^2	Stent Fläche	Stent Fläche	Lumen Fläche	Lumen Fläche	Media Fläche	Media Fläche	Neointima Fläche	Neointima Fläche
Stent 1	19,01	19,72	15,27	15,84	3,85	4,32	3,74	3,88
Stent 2	19,63	19,98	16,61	16,33	5,9	6,29	3,02	3,65
Stent 3	19,63	20,32	15,9	16,36	5,53	5,82	3,73	3,96
Stent 4	20,42	20,89	15,9	16,51	7,53	7,06	4,52	4,38
Stent 5	18,85	19,63	14,52	14,93	7,89	7,44	4,33	4,7
Stent 6	18,09	18,95	14,52	15,09	6,33	5,98	3,57	3,86
Stent 7	19,63	19,65	15,2	14,84	7,21	7,44	4,43	4,81
Mittelwert	19,32	19,88	15,42	15,7	6,32	6,34	3,91	4,18
SD	0,69	0,56	0,71	0,68	1,29	1,03	0,51	0,42
Korrelationskoeffizienten nach Pearson	0,92		0,84		0,96		0,90	

Tabelle 1: Gefäßwandparameter der einzelnen Stents mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Alle Werte wurden an der zweiten Stelle nach dem Komma ab- oder aufgerundet.

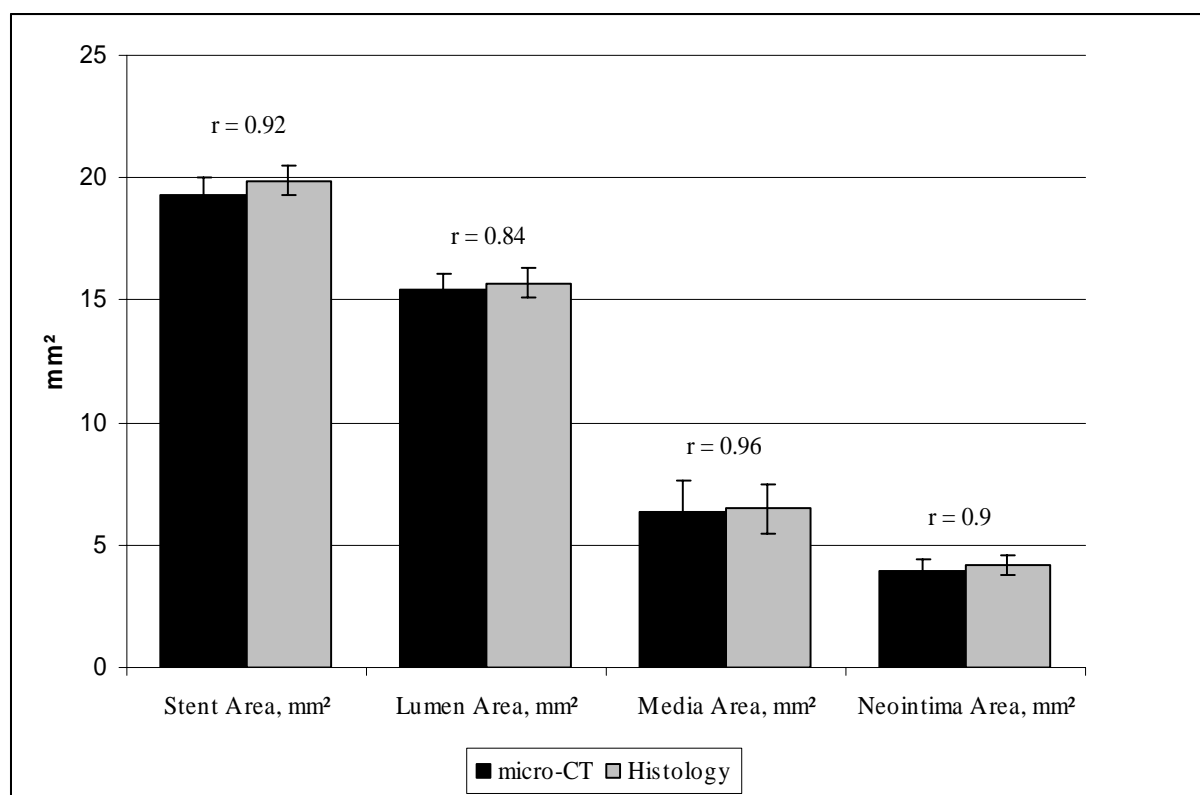


Diagramm 1: Hochsignifikante Korrelation aller gemessener Parameter im Vergleich zwischen mikro-CT und konventioneller Histomorphometrie ($r = 0,84$ bis $0,96$).

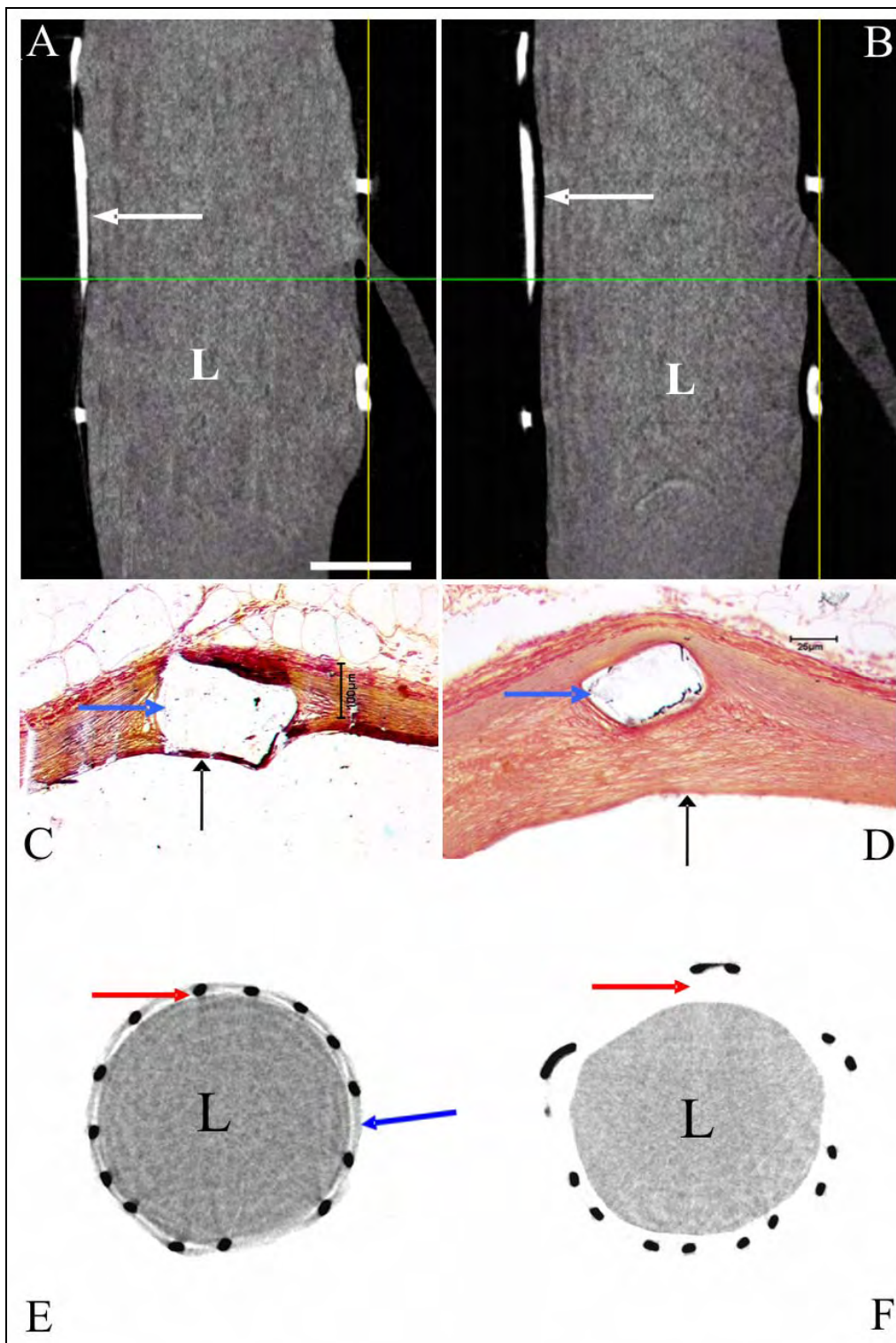


Abbildung 7 A-F: Sagittale Rekonstruktion eines 5 mm breiten und 2 cm langen Palmaz Stent (A, B). Die Stentstreben lassen sich von der Gefäßwand differenzieren. Sechs Wochen nach atherogener Diät zeigt sich in der sagittalen Rekonstruktion eine deutliche Intimahyperplasie (weißer Pfeil) nach Ballonangioplastie und Stentimplantation an der infrarenalen Kaninchenaorta (B). Man erkennt hier eine deutliche Dehiszenz der Stentstreben von dem mit Kontrastmittel gefüllten Gefäßlumen (L). Histologische

Detailaufnahme nach Entfernung der Stentfilamente (C, blauer Pfeil, bar = 25µm). Luminale Neoendothelschicht mit darunterliegender Neointima mit faserreicher Matrix (D, schwarzer Pfeil). In der Kontrolle 3 Tage nach Stentimplantation zeigt sich keine Neointima. In der transversalen mikro-CT lassen sich die Stentstreben vom Lumen (L) abgrenzen. In den korrespondierenden transversalen mikro-CT Schnitten zeigt sich nach 3 Tagen keine Neointima, die Stentstreben liegen dem Lumen an (E, roter Pfeil). Die Gefäßwand (blauer Pfeil) lässt sich zwischen den Stentstreben darstellen. Nach 6 Wochen zeigt sich in den transversalen Schnittbildern eine deutliche Dehiszenz zwischen den Stentstreben und dem Lumen (F, roter Pfeil).

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung und Evaluierung der mikro-CT-Technologie zur quantitativen dreidimensionalen Analyse von Gefäßalterationen nach Ballonangioplastie und Stentimplantation in der Kaninchenaorta.

Inkorporationen von ballon- und selbstexpandierenden Metallstents im arteriellen Gefäßsystem zur Therapie überwiegend arteriosklerotischer Läsionen und Stenosen werden weltweit durchgeführt. Deren Wertigkeit und Therapieerfolge, aber auch deren Komplikationen im Vergleich zu den etablierten operativen Verfahren, werden derzeit in größeren Studien geprüft (z.B. SPACE-Studie). Bei den Komplikationen stehen rezidivierende Mikroembolien aus Parietalthromben und atheromatösen Herden, distale Knickstenosen, Gefäßwandverletzungen und insbesondere Restenosen im Vordergrund. Die intimale Hyperplasie als Antwort auf eine Verletzung der Gefäßwand nach Ballonangioplastie und Stentimplantation stellt, trotz verbesserter post- und periinterventioneller pharmakologischer Therapie, eine häufige und unerwünschte Komplikation dar. Derzeit arbeiten weltweit Forschungsgruppen an den pathophysiologischen Grundlagen der Restenose, und es haben sich beeindruckende pharmakologische Strategien zur Verhinderung der intimalen Hyperplasie nach Stentimplantation gezeigt (Lemos *et al.* (2003); Serruys *et al.* (2002); Rodriguez *et al.* (2003); Farb *et al.* (2002); Morice *et al.* (2002); Marx, Marks (2001); Duda *et al.* (2002)).

Die Quantifizierung der intimalen Hyperplasie nach Ballonangioplastie und Stentimplantation ist ein zeit-, personal-, und laborintensives Verfahren und erfolgt in der Regel histomorphometrisch an Serien- und Stufenschnitten. Dabei wird üblicherweise alle 2 mm ein Stufenschnitt angefertigt. Vor der weiteren histologischen Aufarbeitung müssen die

Stentfilamente lupenmikroskopisch aus den Sägeschnittpräparaten entfernt werden. Dieser Vorgang ist ebenfalls zeit-, personal-, und kostenaufwendig. Die gewonnen histologischen Schnitte können anschließend einer konventionellen Planimetrie zugeführt werden. Die quantitativen Ergebnisse aus einem zweidimensionalen Schnittpräparat werden dabei auf das gesamte Gefäßsegment interpoliert.

Ziel dieser Arbeit war, die mikro-CT als neue Methode zur lückenlosen Quantifizierung der Neointima nach Ballonangioplastie und Stentimplantation im Tiermodell zu evaluieren. Dazu wählten wir das etablierte Tiermodell am Kaninchen, das bereits 6 Wochen nach Angioplastie und Stentimplantation eine intimale Hyperplasie als Antwort auf eine Verletzung der Gefäßwand zeigt.

Dabei wurden an 700 transversalen mikro-CT Bildern Restenoseparameter (Neointima, Mediadicke, Lumen) quantitativ erfasst und mit segmentalen histologischen Schnitten (n = 70) verglichen. Es zeigte sich eine hohe Korrelation im quantitativen Vergleich zwischen der etablierten Histomorphometrie und der mikro-CT.

In zahlreichen Studien (Balto *et al.* (2000); Engelke *et al.* (1993); Hildebrandt *et al.* (2002); Lerman, Ritman (1999); Maehara (2003); Malyar *et al.* (2003); Ritman *et al.* (1998); Wan *et al.* (2002); Won *et al.* (2003); Langheinrich *et al.* (2004); Langheinrich *et al.* (2006)) wurde die morphometrische Korrelation zwischen der mikro-CT und den klassischen histomorphometrischen Verfahren belegt.

Obwohl die mikro-CT in den vorgestellten Studien seine Wertigkeit bei der Quantifizierung von Gefäß- und Weichteilstrukturen demonstrieren konnte, birgt die Verwendung der mikro-CT zwei große Nachteile. Ein Nachteil dieser Methode ist nach wie vor die Begrenzung des Messfeldes auf kleine Volumina, je nach Auflösung von einigen mm³ bis zu wenigen cm³. Derzeit ist die Auflösung durch die Zahl der Pixel der CCD-Kamera noch limitiert (1024x1024), so dass eine Auflösung von nur etwa ein Tausendstel des größten Objektdurchmessers in der Ebene senkrecht zur Drehachse der Probe erreicht werden kann. Mittlerweile werden erste CCD-Kameras mit 4096x4096 Pixeln angeboten, jedoch sind die Kosten für derartige Kameras noch sehr hoch. Auch aufgrund der Vervielfachung der Rechenzeit zur Rekonstruktion eines Volumendatensatzes können CCD-Kameras mit 16 Millionen Pixeln zurzeit noch nicht für die mikro-CT eingesetzt werden.

Ein weiterer Nachteil liegt in der Notwendigkeit der Kontrastmittelapplikation um eine Kontrastverstärkung und damit eine bessere Gewebedifferenzierung zu erreichen. Zahlreiche Untersuchungen haben sich mit Perfusionstechniken beschäftigt (Neudeck, Fournier (1980); Frederik, van Doorn (1973); Bradley (1972); Yonas *et al.* (1982); Daneyemez (1999); Heger

et al. (1976); Kassab, Fung (1994); Walmsley *et al.* (1987); Nettum (1995); Kratky *et al.* (1989)), und dabei gezeigt, dass eine nahezu vollständige und lückenlose Gefäßperfusion durch verschiedene Perfusionstechniken möglich ist. An den fetoplazentaren Gefäßen (Pfarrer *et al.* (1999); Leiser *et al.* (1997); Luckhardt *et al.* (1996); Leiser *et al.* (1989); Leiser (1985)) wurden zur Gefäßdarstellung Korrosioncasts etabliert die erstmals eine nahezu lückenlose Perfusion des Gefäßbaumes ermöglichten. Trotzdem muss einschränkend erwähnt werden, dass, unabhängig von der Perfusionstechnik und des Perfusates, eine homogene, lückenlose und vollständige Gefäßfüllung nicht immer erreicht werden kann. Bereits in den 70iger Jahren konnte gezeigt werden, dass, entscheidend für eine homogene Gefäßperfusion die primäre Beseitigung von Blutbestandteilen aus der Gefäßstrombahn ist (Neudeck, Fournier (1980); Nettum (1995); Kratky *et al.* (1989); Nettum (1996); Nobel, Black (1974); Gade (1977); Kietzmann *et al.* (1971); Grundmann *et al.* (1974); Smolich *et al.* (1984)).

Obwohl die quantitative Histomorphometrie oder stereologische Verfahren nach wie vor als der Goldstandard gelten, haben sie gewisse Nachteile. Neben der destruktiven Probenaufarbeitung können nur wenige Mikrometer eines Gefäßes in diesen Verfahren zur Quantifizierung der Gefäßparameter (z.B. Gefäßwanddicke, Plaquegröße, Verkalkungen, Stenosegrad) herangezogen werden. Die Selektion des zu untersuchenden Segmentes ist dabei mehr oder weniger zufällig, so dass Heterogenitäten von Gefäßalterationen kaum zuverlässig erfasst werden können. Durch Interpolation der gewonnenen quantitativen Daten wird auf die Dimensionen des gesamten Gefäßes oder eines bestimmten Gefäßsegmentes rückgeschlossen. Neben der zeit- und personalintensiven Probenaufbereitung bestehen die Nachteile einer zweidimensionalen Gefäß- und Weichteildarstellung.

Das Potenzial der mikro-CT-Technologie hat sich erst durch die Anwendung verschiedener Kontrastierungs- und Perfusionstechniken entwickelt, eben auch solche Gewebe zu visualisieren und zu differenzieren, deren Feinstruktur erst nach Kontrastverstärkung hervortritt. Für ex-vivo Angiographien wird als Kontrastmittel am häufigsten Bariumsulfat eingesetzt. Durch Beimischung von Gelatine wird erreicht, dass die bei 50 bis 60°C flüssige Suspension bei Zimmertemperatur erstarrt. In der mikro-CT lässt sich das nach Applikation intravasal verbleibende bariumhaltige Kontrastmittel darstellen und quantitativ erfassen.

Neue vaskuläre Kontrastmittel und neue Perfusionstechniken konnten zu weiterführenden methodischen Ansätzen der mikro-CT zur Evaluierung der Gefäßarchitektur beitragen. Bereits in den 70iger Jahren konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von Microfil®-Kontrastmittel (Microfil MV-122, Flow Tech, Carver, MA, USA) eine nahezu lückenlose und homogene Perfusion des arteriellen Gefäßsystems in verschiedenen Organen möglich ist.

Microfil Kontrastmittel besteht aus zwei Komponenten (Chromat und Silikon), die in wässriger Lösung vorliegen. Nach Vermischung der Komponenten härtet dieses Kontrastmittel nach 20 Minuten vollständig aus. Ein wesentlicher Vorteil von Microfil gegenüber bariumsulfathaltigem Kontrastmittel besteht in der geringeren Viskosität und somit in der besseren kapillären Penetration. Desweiteren zeigt Microfil hydrophobe Eigenschaften, die eine Penetration in den extravaskulären Raum verhindern.

Ein erster Ansatz die Gefäßarchitektur in dreidimensionalen mikro-CT Datensätzen zu quantifizieren wurde von Joergensen und Mitarbeiter unternommen (Jorgensen *et al.* (1998)). In fixierten Koronararterien von Schweinen konnte in dieser Studie nach intravasaler Applikation von Microfil Kontrastmittel eine dreidimensionale Darstellung der intramuralen Vasa vasorum bei einer Voxelgröße von 5-25µm gezeigt werden. Weiterführende Arbeiten von Wan und Mitarbeitern (Wan *et al.* (2002)) haben erstmals die dreidimensionale Gefäßarchitektur von perfundierten Rattenkoronarien dargestellt. So konnten mit diesem Verfahren reduzierte Gefäßvolumina von Vasa vasorum der Koronararterien bei experimenteller Hypercholesterinämie nachgewiesen werden (Kwon *et al.* (1998b)). Aber auch therapeutisch induzierte Regressionen atherosklerotischer Intimahyperplasien ließen sich mit diesem Verfahren eindrucksvoll quantifizieren (Kwon *et al.* (1998a)). Ausgehend von diesen Erkenntnissen konnte die Arbeitsgruppe um Lerman und Ritman (Lerman, Ritman (1999); Ritman *et al.* (1998); Ritman (2002)) die mikro-CT in der systematischen Struktur-Funktionsbeziehung von isolierten, fixierten und perfundierten Organen einsetzen.

Zur Darstellung und Quantifizierung der Vasa vasorum von Koronargefäßen (Beighley *et al.* (1997); Gossel *et al.* (2003a); Kantor *et al.* (1999); Kantor *et al.* (2002); Kwon *et al.* (1998a); Kwon *et al.* (1998b); Ritman *et al.* (1998); Ritman (2002); Rodriguez-Porcel *et al.* (2000)), der Nierenarterien (Bentley *et al.* (2002); Fortepiani *et al.* (2003); Garcia-Sanz *et al.* (1998); Ortiz *et al.* (2000b)), des arteriellen und portal-venösen Lebergefäßbaumes (Wan *et al.* (2000)), der Pulmonalarterien (Karau *et al.* (2001)) sowie der Corpora cavernosa der Ratte (Simopoulos *et al.* (2001)) wurde Microfil als Kontrastverstärkung verwendet. Die in diesen Arbeiten beschriebenen Anwendungen zeigen, dass durch die Entwicklung der mikro-CT-Technologie mit begleitender Kontrastmittelperfusion der vaskulären Forschung völlig neue Möglichkeiten eröffnet werden.

Inkorporationen von ballon- und selbstexpandierenden Metallstents im arteriellen Gefäßsystem zur Therapie überwiegend arteriosklerotischer Läsionen und Stenosen werden weltweit zunehmend häufiger durchgeführt. Deren Wertigkeit und Therapieerfolge, aber auch deren Komplikationen im Vergleich zu den etablierten operativen Verfahren, werden derzeit in

größeren Studien geprüft (z. B. SPACE-Studie). Bei den Komplikationen stehen rezidivierende Mikroembolien aus Parietalthromben und atheromatösen Herden, distale Knickstenosen, Gefäßwandverletzungen und insbesondere Restenosen im Vordergrund. Die intimale Hyperplasie als Antwort auf eine Verletzung der Gefäßwand nach Ballonangioplastie und Stentimplantation stellt, trotz verbesserter post- und periinterventioneller pharmakologischer Therapie, eine häufige und unerwünschte Komplikation dar. Derzeit arbeiten weltweit Forschungsgruppen an den pathophysiologischen Grundlagen der Restenose, und es haben sich beeindruckende pharmakologische Strategien zur Verhinderung der intimalen Hyperplasie nach Stentimplantation gezeigt (Lemos *et al.* (2003); Serruys *et al.* (2002); Rodriguez *et al.* (2003); Farb *et al.* (2002); Morice *et al.* (2002); Marx, Marks (2001); Duda *et al.* (2002)).

Nach Endotheldenudation, Ballonangioplastie und Stentimplantation konnten wir die intimale Hyperplasie in der mikro-CT quantitativ erfassen. Dabei zeigte sich im Vergleich zwischen Histomorphometrie und mikro-CT eine signifikante Korrelation in der Erfassung der Intimahyperplasie. Obwohl 6 Wochen nach PTA und Stentimplantation in der konventionellen Angiographie keine morphologischen Gefäßwandveränderungen zu detektieren waren, ließen sich diese nicht hämodynamisch wirksamen intimale Hyperplasien in der mikro-CT darstellen. Die Methode hat somit das Potential, die quantitative Histologie in der vaskulären Forschung speziell in der morphometrischen Analytik zu ergänzen, da strukturelle Veränderungen umfassend quantifiziert werden können. Insbesondere segmentale Gefäßläsionen können primär mit der mikro-CT lokalisiert und anschließend histologisch/immunhistologisch verifiziert werden, so dass diese bislang noch teuren Hilfsmittel künftig in bestimmten Körperregionen effizienter eingesetzt werden können.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war die Evaluierung der mikro-CT als neue Methode zur quantitativen Erfassung von Restenoseparameter nach Ballonangioplastie und Stentimplantation in der Kaninchenaorta. Dazu wählten wir das etablierte Tiermodell am Kaninchen, dass typischerweise 6 Wochen nach Angioplastie und Stentimplantation eine intimale Hyperplasie als Reaktion auf eine Verletzung der Gefäßwand entwickelt.

In den letzten 20 Jahren wurde die perkutane transluminale Angioplastie (PTA) zu einem wichtigen Therapieverfahren zur Behandlung atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen. Die Ballonangioplastie hat mit der Restenose als Folgeerkrankung jedoch zu einem neuem Krankheitsbild geführt. Trotz verbesserter Restenoseprophylaxe mittels systemischer

medikamentöser Therapie ließ sich keine wesentliche Reduktion der Inzidenz der Restenose erreichen. Der Grund für dieses unbefriedigende Ergebnis liegt unter anderem in der noch nicht ganz verstandenen Pathophysiologie der Restenosemechanismen. Bei den komplexen zellulären Vorgängen nach PTA wird eine Vielzahl von Mediatoren freigesetzt, die ihrerseits sowohl die Myofibroblasten als auch die glatten Muskelzellen in der Media aktivieren. Die Freisetzung von Wachstumsfaktoren wie PDGF und FGF, vor allem aus Makrophagen und Thrombozyten wird als Trigger für die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen angesehen.

Auch die Einführung von endovaskulären Stents hat das Problem der Restenose nicht ausreichend lösen können. Nach Stentimplantation kommt es zu einer Migration und Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen mit dem Bild der Intimahyperplasie und den damit verbunden In-Stent-Restenosen. Ein neues Therapiekonzept stellt die Applikation antiproliferativer Substanzen durch medikamentenbeschichtete Stents dar. Eine lokale Medikamentenapplikation ermöglicht eine höhere Gewebskonzentration der Substanz vor Ort mit gleichzeitig geringen systemischen Effekten. In mehreren Studien mit Sirolimus-beschichteten Stents (Morice *et al.* (2002); Degertekin *et al.* (2002)) konnte die Restenoserate signifikant gesenkt werden. Dabei war der Grad der Intimaproliferation nach 6 Monaten in der Sirolimus-Gruppe signifikant geringer als bei unbeschichteten Stent. Kein Patient aus der Sirolimus-Gruppe hatte eine Restenose von mehr als 50%, wohingegen die bei 26,6% aus der Kontrollgruppe der Fall war.

Durch die Akquirierung eines isotropen Datensatzes konnte in der mikro-CT eine dreidimensionale Darstellung und Quantifizierung von Gefäßalterationen nach Ballonangioplastie und Stentinkorporation an der Aorta abdominalis im Kaninchen erarbeitet werden. Im quantitativen Vergleich zur konventionellen Histomorphometrie zeigten sich hochsignifikante Korrelationen aller gemessenen Gefäßwandparameter. Damit stellt die mikro-CT eine neue und ergänzende Methode zur quantitativen Histologie dar.

Die in der mikro-CT gewonnenen Erkenntnisse über die radiologische Quantifizierbarkeit der Restenose nach Angioplastie und Stentimplantation lassen sich möglicherweise auf klinische Anwendungen in der Mehrzeilen Computertomographie übertragen.

6. Literaturverzeichnis

1. Achenbach S (2003). Clinical use of multi-slice CT coronary angiography. *Herz* 28, 119-125.
2. Achenbach S, Giesler T, Ropers D, Ulzheimer S, Anders K, Wenkel E, Pohle K, Kachelriess M, Derlien H, Kalender WA, Daniel WG, Bautz W, Baum U (2003a). Comparison of image quality in contrast-enhanced coronary-artery visualization by electron beam tomography and retrospectively electrocardiogram-gated multislice spiral computed tomography. *Investigative radiology* 38, 119-128.
3. Achenbach S, Hoffmann U, Ferencik M, Wicky S, Brady TJ (2003b). Tomographic coronary angiography by EBCT and MDCT. *Progress in cardiovascular diseases* 46, 185-195.
4. Balto K, Müller R, Carrington DC, Dobeck J, Stashenko P (2000). Quantification of periapical bone destruction in mice by micro-computed tomography. *Journal of dental research* 79, 35-40.
5. Barrett TB, Benditt EP (1988). Platelet derived growth factor gene expression in human atherosclerotic plaques and normal artery wall. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America* 85, 2810-2814.
6. Beighley PE, Thomas PJ, Jorgensen SM, Ritman EL (1997). 3D architecture of myocardial microcirculation in intact rat heart: a study with micro-CT. *Advances in experimental medicine and biology* 430, 165-175.
7. Bentley MD, Rodriguez-Porcel M, Lerman A, Sarafov MH, Romero JC, Pelaez LI, Grande JP, Ritman EL, Lerman LO (2002a). Enhanced renal cortical vascularization in experimental hypercholesterolemia. *Kidney international* 61, 1056-1063.
8. Bradley R. (1972). The post-mortem fixation of farm animals by vascular perfusion. *Research in veterinary science* 13, 579-588.
9. Buecker A, Spuentrup E, Ruebben A, Günther RW (2002). Artifact-free in-stent lumen visualization by standard magnetic resonance angiography using a new metallic magnetic resonance imaging stent. *Circulation* 105, 1772-1775.
10. Casscells, W. (1991). Smooth muscle cell growth factors. *Progress in growth factor research* 3, 177-206.
11. Clowes AW, Reidy MA (1991). Prevention of stenosis after vascular reconstruction: pharmacologic control of intimal hyperplasia - a review. *Journal of vascular surgery* 13, 885-891.
12. Costa MA, Sabate M, Kay IP, de Feyter PJ, Kozuma K, Serrano P, de Valke V, Albertal M, Lighart JM, Disco C, Foley DP, Serruys PW (2000). Three-dimensional

intravascular ultrasonic volumetric quantification of stent recoil and neointimal formation of two new generation tubular stents. *The american journal of cardiology* 85, 135-139.

13. Cotton P (1994). Restenosis trials suggest role for remodeling. *The journal of american medical association* 271, 1302-1305.

14. Daneyemez M (1999). Silicone rubber microangiography of injured acute spinal cord after treatment with methylprednisolone and vitamin E in rats. *Spine* 24, 2201-2205.

15. Degertekin M, Serruys PW, Foley DP, Tanabe K, Regar E, Vos J, Smits PC, van der Giessen WJ, van den Brand M, de Foyter P, Popma JJ (2002). Persistent inhibition of neointimal hyperplasia after sirolimus-eluting stent implantation: long-term (up to 2 years) clinical, angiographic, and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation* 106, 1610-1613.

16. Duda SH, Pusich B, Richter G, Landwehr P, Oliva VL, Tielbeek A, Wiesinger B, Hak JB, Tielemans H, Ziemer G, Cristea E, Lansky A, Bérégi J (2002). Sirolimus-eluting stents for the treatment of obstructive superficial femoral artery disease: six-month results. *Circulation* 106, 1505-1509.

17. Dzau VJ, Gibbons GH (1991). Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. *Hypertension* 18, 115-121.

18. Engelke K, Graeff W, Meiss L, Hahn M, Delling G (1993). High spatial resolution imaging of bone mineral using computed microtomography. Comparison with microradiography and undecalcified histologic sections. *Investigative radiology* 28, 341-349.

19. Farb A, John M, Acampado E, Kolodgie FD, Prescott MF, Virmani R (2002). Oral everolimus inhibits in-stent neointimal growth. *Circulation* 106, 2379-2384.

20. Fortepiani LA, Ortiz Ruiz MC, Passardi F, Bentley MD, Garcia-Estan J, Ritman EL, Romero JC (2003). Effect of losartan on renal microvasculature during chronic inhibition of nitric oxide visualized by micro-CT. *American journal of physiology. Renal physiology* 285, 852-860.

21. Frederik PM, van Doorn LG (1973). A technique for perfusion of rat testes in situ through the internal spermatic arteries. *Journal of reproduction and fertility* 35, 117-121.

22. Gade R (1977). Microangiography in the perfusion-fixed rabbit kidney: a single injection technique for the study of the nephron. *Investigative radiology* 12, 348-352.

23. Galloni M, Prunotto M, Santarelli A, Laborde F, Dibie A, Isaia C, Monari E, Gatti AM, Pasquino E (2003). Carbon-coated stents implanted in porcine iliac and renal arteries: histologic and histomorphometric study. *Journal of vascular and interventional radiology* 14, 1053-1061.

24. Garcia-Sanz A, Rodriguez-Barbero A, Bentley MD, Ritman EL, Romero JC (1998).

Three-dimensional microcomputed tomography of renal vasculature in rats. *Hypertension* 31, 440-444.

25. Gössl M, Malyar NM, Rosol M, Beighley PE, Ritman EL (2003a). Impact of coronary vasa vasorum functional structure on coronary vessel wall perfusion distribution. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 285, 2019-2026.
26. Gössl M, Rosol M, Malyar NM, Fitzpatrick LA, Beighley PE, Zamir M, Ritman EL (2003b). Functional anatomy and hemodynamic characteristics of vasa vasorum in the walls of porcine coronary arteries. *The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular and evolutionary biology* 272(2), 526-537.
27. Grewe PH, Thomas D, Machraoui A, Barmeyer J, Müller KM (2000). Coronary morphologic findings after stent implantation. *American journal of cardiology* 85, 554-558.
28. Grundmann R, Raab M, Meusel E, Kirchhoff R, Pichlmaier H (1974). The flow distribution in the hypothermic perfused kidney visualised by silicon rubber injection. *Langenbecks Archiv für Chirurgie* 336(3), 195-206.
29. Heger W, Kaden F, Mittmann U, Schmier J (1976). Injection methods for the demonstration of the coronary arterial vasculature. *Basic research in cardiology* 71, 103-112.
30. Hildebrandt AL, Kelly-Sullivan DM, Black SC (2002). Validation of a high-resolution X-ray computed tomography system to measure murine adipose tissue depot mass in situ and longitudinally. *Journal of pharmacological and toxicological methods* 47, 99-06.
31. Jorgensen SM, Demirkaya O, Ritman EL (1998). Three-dimensional imaging of vasculature and parenchyma in intact rodent organs with X-ray micro-CT. *The american journal of physiology* 275, 1103-1114.
32. Kantor B, Jorgensen SM, Lund PE, Chmelik MS, Reyes DA, Ritman EL (2002). Cryostatic micro-computed tomography imaging of arterial wall perfusion. *Scanning* 24, 186-190.
33. Kantor B, Kwon HM, Ritman EL, Holmes DR, Schwartz RS (1999). Images in Cardiology Imaging the coronary microcirculation: 3D micro-CT of coronary vasa vasorum. *International journal of cardiovascular intervention* 2, 79.
34. Kantor B, Ritman EL, Holmes Jr. DR, Schwartz (2000). Imaging angiogenesis with three-dimensional microscopic computed tomography. *Current interventional cardiology reports* 2, 204-212.
35. Karau KL, Johnson RH, Molthen RC, Dhyani AH, Haworth ST, Hanger CC, Roerig DL, Dawson CA (2001a). Microfocal X-ray CT imaging and pulmonary arterial distensibility in excised rat lungs. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 281,

1447-1457.

36. Karau KL, Molthen RC, Dhyani A, Howorth ST, Hanger CC, Roerig DL, Johnson RH, Dowson CA (2001b). Pulmonary arterial morphometry from microfocal X-ray computed tomography. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 281, 2747-2756.
37. Kassab GS, Fung YC (1994). Topology and dimensions of pig coronary capillary network. *American journal of physiology* 267, 319-325.
38. Kietzmann G, Zimmermann B, Krüger U (1971). Post mortem demonstration of blood vessels on controlled pressure conditions. *Deutsches medizinisches Journal* 22, 706-710.
39. Kratky RG, Zeindler CM, Lo DK, Roach MR (1989). Quantitative measurement from vascular casts. *Scanning microscopy* 3, 937-3.
40. Kuehne T, Saeed M, Moore P, Gleason K, Reddy G, Teitel D, Higgins GB (2002). Influence of blood-pool contrast media on MR imaging and flow measurements in the presence of pulmonary arterial stents in swine. *Radiology* 223, 439-445.
41. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, Lerman A, McKenna G, Virmani R, Edwards WD, Holmes DR, Schwartz RS (1998a). Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. *Journal of american college of cardiology* 32, 2072-2079.
42. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, McKenna C, Holmes Jr. DR, Schwartz RS, Lerman A (1998b). Enhanced coronary vasa vasorum neovascularization in experimental hypercholesterolemia. *The journal of clinical investigation* 101, 1551-1556.
43. Langheinrich AC, Bohle RM, Greschus S, Hackstein N, Walker G, von Gerlach S, Rau WS, Hölschermann H (2004). Atherosclerotic lesions at micro CT: feasibility for analysis of coronary artery wall in autopsy specimens. *Radiology* 231, 675-681.
44. Langheinrich AC, Michniewicz A, Sedding DG, Walker G, Beighley PE, Rau WS, Bohle RM, Ritman EL (2006). Correlation of vasa vasorum neovascularization and plaque progression in aortas of apolipoprotein E(-/-)/low-density lipoprotein(-/-) double knockout mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 26, 347-352.
45. Leiser R. (1985). Fetal vasculature of the human placenta: scanning electron microscopy of microvascular casts. *Contributions of gynecology and obstetrics* 13, 27-31.
46. Leiser R, Dantzer V, Kaufmann P. (1989). Combined microcorrosion casts of maternal and fetal placental vasculature. A new method of characterizing different placental types. *Progress in clinical and biological research* 296, 421-433.
47. Leiser R, Krebs C, Ebert B, Dantzer V (1997). Placental vascular corrosion cast

studies: a comparison between ruminants and humans. *Microscopy and research technique* 38, 76-87.

48. Lemos PA, Lee CH, Degertekin M, Saia F, Tanabe K, Arampatzis CA, Hoyer A, van Duuren M, Sianos G, Smiths PC, de Feyter P, van der Giessen WJ, van Domburg RT, Serruys PW (2003). Early outcome after sirolimus-eluting stent implantation in patients with acute coronary syndromes: insights from the Rapamycin-Eluting Stent Evaluated At Rotterdam Cardiology Hospital Research registry. *Journal of the american college of cardiology* 41, 2093-2099.
49. Lerman A, Ritman EL (1999). Evaluation of microvascular anatomy by micro-CT. *Herz* 24, 531-533.
50. Luckhardt M, Leiser R, Kingdom J, Malek A, Sager R, Kaisig C, Schneider H (1996). Effect of physiologic perfusion-fixation on the morphometrically evaluated dimensions of the term placental cotyledon. *Journal of the society for gynecological investigation* 3, 166-171.
51. Maehara N. (2003). Experimental microcomputed tomography study of the 3D microangioarchitecture of tumors. *European radiology* 13, 1559-1565.
52. Malyar NM (2003). Arterial Diameter to Perfused Tissue Volume Relationship in Myocardial Microcirculation - a Micro-CT Based Analysis. *The american journal of physiology. Heart and circulatory physiology*.
53. Marx SO, Marks AR (2001). Bench to bedside: the development of rapamycin and its application to stent restenosis. *Circulation* 104, 852-855.
54. Meredith IT, Anderson TJ, Uehata A, Yeung AC, Selwyn AP, Ganz P (1993). Role of endothelium in ischemic coronary syndromes. *The american journal of cardiology* 72, 27-32.
55. Meyer JM, Buecker A, Schuermann K, Ruebben A, Guenther RW (2000). MR evaluation of stent patency: in vitro test of 22 metallic stents and the possibility of determining their patency by MR angiography. *Investigative radiology* 35, 739-746.
56. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, Colombo A, Schuler G, Barragan P, Gualquimi G, Molnàr F, Falotico R, RAVAEEL Study Group (2002). A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *New england journal of medicine* 346, 1773-1780.
57. Nettum JA (1995b). Combined vascular-bronchoalveolar casting using formalin-fixed canine lungs and a low viscosity silicone rubber. *The anatomical record* 243, 479-482.
58. Neudeck LD, Fournier DJ (1980). A simple technique for silicone rubber perfusion of the microcirculation of the mouse kidney. *Laboratory animal science* 30, 209-211.
59. Nissen SE, Yock P (2001). Intravascular ultrasound: novel pathophysiological insights

and current clinical applications. *Circulation* 103, 604-616.

60. Nobel W, Black D (1974). The microcirculation of peripheral nerves: techniques for perfusion and microangiographic, macrophotographic, and photomicrographic recordings in animals. *Journal of neurosurgery* 41, 83-91.
61. Ortiz MC, Garcia-Sanz A, Bentley MD, Fortepiani LA, Garcia-Estan J, Ritman EL, Romero JC, Juncos LA (2000). Microcomputed tomography of kidneys following chronic bile duct ligation. *Kidney international* 58, 1632-1640.
62. Pfarrer C, Macara L, Kingdom J (1999). Adaptive angiogenesis in placentas of heavy smokers. *Lancet* 354, 303.
63. Ritman EL (2002). Molecular imaging in small animals--roles for micro-CT. *Journal of cellular biochemistry. Supplement* 39, 116-124.
64. Ritman EL, Bolander ME, Fitzpatrick LA, Turner RT (1998). Micro-CT imaging of structure-to-function relationship of bone microstructure and associated vascular involvement. *Technology and health care* 6, 403-412.
65. Rodriguez AE, Fernandez Pereira C, Rodriguez AM (2003). Oral rapamycin in the treatment of diffuse proliferative in-stent restenosis in a patient with small reference vessel. *Journal of invasive cardiology* 15, 515-518.
66. Rodriguez-Porcel M, Lerman A, Ritman EL, Wilson SH, Best PJ, Lerman LO (2000). Altered myocardial microvascular 3D architecture in experimental hypercholesterolemia. *Circulation* 102, 2028-2030.
67. Ropers D, Baum U, Pohle K, Anders K, Ulzheimer S, Ohnesorge B, Schlundt C, Bautz W, Daniel WG, Achenbach S (2003). Detection of coronary artery stenoses with thin-slice multi-detector row spiral computed tomography and multiplanar reconstruction. *Circulation* 107, 664-666.
68. Rosenberg RD (1993). Vascular smooth muscle cell proliferation: basic investigations and new therapeutic approaches. *Thrombosis and haemostasis* 70, 10-16.
69. Ross R (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362, 801-809.
70. Schwartz SM, Foy L, Bowen-Pope DF, Ross R (1990). Derivation and properties of platelet derived growth factor independent rat smooth muscle cells. *The american journal of pathology* 136, 1417-1428.
71. Serruys PW, Regar E, Carter AJ (2002). Rapamycin eluting stent: the onset of a new era in interventional cardiology. *Heart* 87, 305-307.
72. Simopoulos DN, Gibbons SJ, Malysz J, Szurszewski JH, Farrugia G, Ritman EL,

-
- Moreland RB, Nehra A (2001). Corporeal structural and vascular micro architecture with X-ray micro computerized tomography in normal and diabetic rabbits: histopathological correlation. *The journal of urology* 165, 1776-1782.
73. Smolich JJ, Canale E, Campbell GR, Walker AM, Adamson TM, Maloney JE (1984). An improved perfusion technique for fixation of sheep myocardium. *The anatomical record* 208, 607-611.
74. Spuentrup E, Ruebben A, Stuber M, Günther RW, Buecker A (2003). Metallic renal artery MR imaging stent: artifact-free lumen visualization with projection and standard renal MR angiography. *Radiology* 227, 897-902.
75. von Birgelen C, Mintz GS, Nicosia A, Foley DP, van der Giessen WJ, Bruining N, Airiian SG, Roelandt JR, de Feyter PJ, Serruys PW (1997). Electrocardiogram-gated intravascular ultrasound image acquisition after coronary stent deployment facilitates on-line three-dimensional reconstruction and automated lumen quantification. *Journal of the american college of cardiology* 30, 436-443.
76. Walmsley JG, Granter SR, Hacker MP, Moore AL, Ershler WB (1987). Tumor vasculature in young and old hosts: scanning electron microscopy of microcorrosion casts with microangiography, light microscopy and transmission electron microscopy. *Scanning microscopy* 1, 823-830.
77. Wan SY, Kiraly AP, Ritman EL, Higgins WE (2000). Extraction of the hepatic vasculature in rats using 3-D micro-CT images. *IEEE transaction on medical imaging* 19, 964-971.
78. Wan SY, Ritman EL, Higgins WE (2002). Multi-generational analysis and visualization of the vascular tree in 3D micro-CT images. *Computers in biology and medicine* 32, 55-71.
79. Wilson SH, Herrmann J, Lerman LO, Holmes Jr. DR, Napoli C, Ritman EL, Lerman A (2002). Simvastatin preserves the structure of coronary adventitial vasa vasorum in experimental hypercholesterolemia independent of lipid lowering. *Circulation* 105, 415-418.
80. Won YY, Chung YS, Park YK, Yoo VY (2003). Correlations between microcomputed tomography and bone histomorphometry in Korean young females. *Yonsei medical journal* 44(5), 811-815.
81. Yonas H, Boehnke M, Wolfson S (1982). Radiopaque silicone rubber and xeroradiography for the high-resolution visualization of the cerebral vasculature. *Surgical neurology* 17, 130-131.

7. Lebenslauf

Name: Jun-Stephan Yajima
 Geburtsdatum: 06.12.1977
 Geburtsort: Tokyo (Japan)
 Familienstand: ledig
 Vater: Prof. Dr. ing. Sohji Yajima; Kokushikan Universität/Tokyo
 Mutter: Birgitta Dallwig-Yajima, Physiotherapeutin

Schulbildung/Studium und Prüfungen

1984-1990	Maruyama Grundschule in Nakano-ku (Tokyo/Japan)
1990-1993	11. Öffentliche Mittelschule (Junior High school) Nakanos (Tokyo/Japan)
1993	Aufnahmeprüfung für die Dokkyo Oberschule (Senior High School)
1993-1996	Dokkyo Oberschule (Senior High School) in Tokyo (Japan)
März 1996	Schulabschluß
1996	Aufnahmeprüfung für die Dokkyo Universität (Soka/Saitama)
1996-1998	Germanistikstudium an der Dokkyo Universität
1997	Prüfung zum Nachweis deutscher Sprachkenntnisse an der Universität Heidelberg
1998	Erwerb der Hochschulzugangsberechtigung für Deutschland
1998	Zentrale Mittelstufenprüfung (Goethe-Institut, Tokyo)
1998	Immatrikulation an der Justus-Liebig-Universität Gießen (Humanmedizinisches Studium)
März 2000	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
März 2001	1. ärztliche Prüfung
Sep. 2003	2. ärztliche Prüfung
Okt. 2003 – Sep. 2004	Praktisches Jahr (Asklepios Klinik Lich)
Nov. 2004	3. ärztliche Prüfung

Beruf

Mai 2005 Medizinische Klinik St.Vincenz Krankenhaus Limburg

8. Publikationen

Originalpublikation

1. Langheinrich AC, Zörb C, Yajima J, Lommel D, Müller KM, Rau WS, Bohle RM. Quantification of In-Stent Restenosis Parameters in Rabbits by micro-CT. Fortschritt auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin 2005; 177:501-506.

Abstracts

1. Langheinrich AC, Zörb C, Yajima J, Breithecker A, Lommel D, Grewe P, Hölschermann H, Rau WS, Bohle RM. Quantitative Analysis of stent restenosis parameters: Comparison between semi-automatic computer assisted planimetry and x-ray micro-computed tomography. Hämostaseologie 2004.24;19:53.

2. Langheinrich AC, Yajima J, Zörb C, Breithecker A, Lommel D, Haberbosch W, Rau WS. Quantitative Assessment of Atherosclerotic Lesions in the rabbit Aorta after ballon injury and Stent-implantation with X-ray micro-CT. Journal of the american college of cardiology 2002; 39:2874.

3. Zörb C, Langheinrich AC, Yajima J, Breithecker A, Lommel D, Rau WS. Die mikro-CT als neue Methode zur Quantifizierung atherosklerotischer Läsionen im Restenosemodell der denudierten Kaninchenaorta. Fortschritt auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin 2002; Supplement 1, Band 174; 120

9. Abstract

Objectives: The well-defined model of angioplasty and stentimplantation in the rabbit aorta is useful in experimental studies of restenosis. This study was performed to evaluate the feasibility of micro-CT for quantification of in-stent restenosis in a rabbit aortic in-stent-restenosis model.

Methods and Results: To induce in-stent restenosis seven female New Zealand rabbits underwent balloon dilation and denudation prior to stenting the abdominal aorta. After six weeks on atherogenic diet, animals were killed and the aorta was perfused with contrast agent. Micro-CT morphometric analysis of balloon-and stent injured arteries revealed concentric intimal hyperplasia obtained by 700 transverse sections. The results were compared with those obtained from a detailed conventional histomorphometric analysis of corresponding cross-sections. Intimal hyperplasia was present in stented and balloon injured arteries with a moderate intimal area assessed by micro-CT and conventional histology ($3.91 \pm 0.5 \text{ mm}^2$ vs. 4.18 ± 0.42 ; $r = 0.9$). High significant correlations between micro-CT image analysis and conventional histomorphometry were obtained for lesion size, size of media, size of lumen and stent area ($r = 0.84$ to 0.96).

Conclusion: Micro-CT is feasible for fast acquisition of quantitative information about restenosis after balloon angioplasty and stentimplantation. We believe that micro-CT has the potential to become a standard technique in many laboratories which will augment serial histology as the reference method for ex-vivo studies of restenosis.

10. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. W. S. Rau als Direktor der Abteilung für Diagnostische Radiologie der Universität Gießen für die Überlassung dieses Themas ganz herzlich bedanken.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. A. C. Langheinrich als Betreuer und Doktorvater herzlichst bedanken. Er begleitete mich durch die Arbeit und zeigte mir immer wieder neue Wege in der wissenschaftlichen Methodik, ihrer Anwendung und unterstützte mich bei der Niederschreibung der Arbeit.

Ein ganz herzlicher Dank sei auch Frau G. Martels für Ihre Anleitung im mikro-CT Labor ausgesprochen.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. R. M. Bohle für seine großzügige Unterstützung in der histologischen Aufarbeitung und Analyse. Gleicherweise möchte ich auch Herrn PD Dr. P. Grewe vom Institut für Pathologie an den Berufsgenossenschaftlichen Kliniken Bergmannsheil, Bochum und Herrn Prof. Dr. med. K. Müller als Abteilungsleiter danken.

Zu guter Letzt möchte ich auch meinen Eltern, die es überhaupt ermöglichten in Deutschland ein solch langes Studium zu absolvieren, meine Brüdern, meinen Verwandten, Freunden und Freundinnen, die mich durch das Studium begleitet haben und unterstützten, ein ganz herzliches Dankeschön sagen.

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Jun-Stephan Yajima



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D - 3 5 3 9 6 G I E S S E N

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5139-4



9 783835 951396